

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ МАКСИМУМА ПОГЛОЩЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА *a* С УЧЕТОМ КОНФОРМАЦИОННОЙ ГИБКОСТИ МОЛЕКУЛ

А.А. Мезенцева, Н.А. Миронова, Е.В. Бурляева

Исследована взаимосвязь «структура–свойства» для ряда производных бактериохлорофилла *a*. Процедура прогнозирования термодинамических и спектральных характеристик для этих соединений расширена за счет отбора конформеров, от которых предположительно зависят спектральные характеристики.

Введение

Одной из важнейших задач компьютерной химии является предсказание физических, химических и биологических свойств химических соединений. Такое прогнозирование позволяет проводить дорогостоящие экспериментальные исследования более направленно и оценивать возможность использования соединения в качестве основы для создания лекарственного препарата на ранних стадиях его изучения. В основе исследований лежит предположение о том, что структура соединения определяет свойства, проявляемые этим соединением. На стыке исследований в области химической технологии и прикладной математики на протяжении ряда лет разрабатываются способы формирования гипотез о взаимосвязи между структурой молекулы и ее свойствами на базе анализа данных ранее синтезированных и исследованных молекулах соединениях того же класса. Эту область исследований кратко называют изучением зависимостей «структура – активность» (structure – activity relationships, SAR).

Молекула исследуемого соединения часто является конформационно гибкой: одной и той же структурной формуле соответствует множество трехмерных структур – конформеров. В этом случае зависимость «структура – активность» оказывается неоднозначной – одному соединению, характеризующемуся некоторым значением активности, соответствует несколько различных значений одного и того же параметра, полученных для различных конформеров этого соединения. В последнее время предложен ряд методов, предназначенных для формирования и анализа неоднозначных зависимостей «структура – активность» [1].

При этом методы отбора конформеров, параметры которых будут учитываться при формировании зависимостей «структура – активность», не столь разработаны.

Задачей настоящего исследования являлось прогнозирование спектральных свойств ряда производных бактериохлорофинов с целью анализа их применимости при фотодинамической терапии (ФДТ) рака. Как известно, в основе этого метода лежит накопление специфических веществ – фотосенсибилизаторов (ФС) в раковых клетках с последующим облучением светом определенной длины волны. Возбужденные молекулы ФС вступают во взаимодействие с кислородом раковой клетки, в результате чего образуется синглетный кислород, который разрушает жизненно важные компоненты этой клетки. С точки зрения эффективности фотодинамической терапии важнейшей характеристикой ФС является наличие в их спектре интенсивной полосы поглощения в красной и ближней инфракрасной областях, поскольку свет с подобной длиной волны глубже проникает в ткани.

Были известны две группы производных бактериохлорофилла *a* – бактериопурпурины (**1a–b**) [2–4] и N-метоксициклоимиды бактериохлорофиллина *p* (**2a, г**) (рис. 1) [5]. Эти соединения являются перспективными ФС третьего поколения для ФДТ [6]. Производные природного бактериохлорофилла *a*, в силу своих хороших спектральных характеристик, доступности и отсутствия токсичности широко используются в последнее время для этих целей [7, 8].

Следует отметить, что хотя ядро молекулы производных бактериохлорофилла *a* имеет плоскую структуру, отдельные конформеры существенно различаются по своим квантово-

химическим параметрам (так, различия в значении теплот образования конформеров исследованных соединений достигали 50.3 кДж/моль [9]). При этом необходимо учитывать, что за характерный для данного соединения спектр поглощения отвечают конформеры, находящиеся в возбужденном

состоянии, а не наиболее энергетически устойчивые конформеры. Таким образом, при прогнозировании необходимо выполнить конформационный анализ и сформулировать критерии отбора «активных», т.е. находящихся в возбужденном состоянии конформеров.

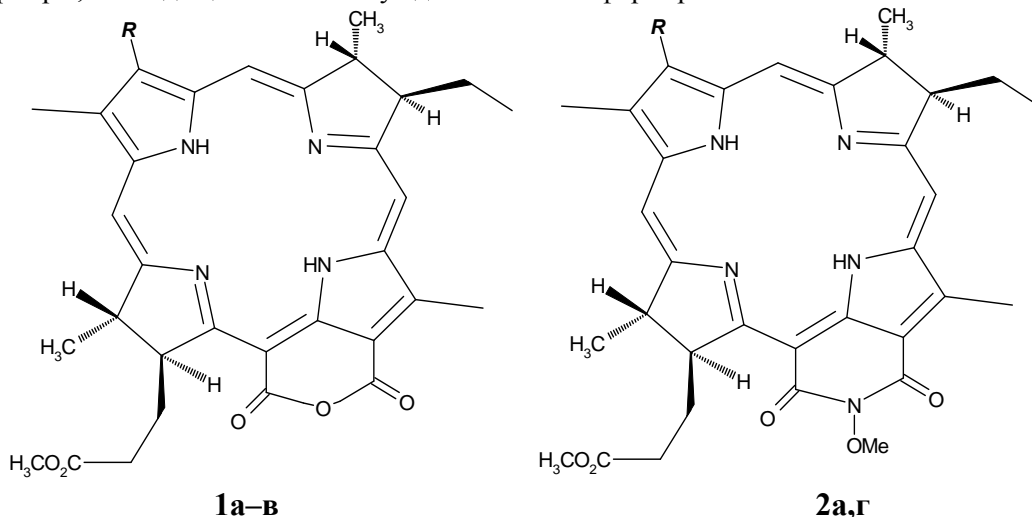


Рис. 1. Исследуемые производные бактериохлорофилла *a*:
R = -CH=CH₂ (а), -COCH₃ (б), -CH(CH₃)OH (в), -C(CH₃)=NOH (г).

Методы исследований

Для выявления и анализа неоднозначных зависимостей при прогнозировании спектральных свойств производных бактериохлорофинов использовался метод комплексных интервальных моделей [10], представляющий собой расширение методов интервального анализа для решения задач индуктивного вывода. Метод реализован в рамках программного комплекса, разработанного на кафедре Информационных технологий МИТХТ им. М.В. Ломоносова. Для квантовохимических расчетов использовались полуэмпирические методы PM3 и ZINDO/S, реализованные в программе HyperChem 8.0 [11, 12]. Расчеты выполнялись на персональном компьютере.

При генерации конформеров для тех связей, которые можно свободно вращать, использовался угол поворота 120°. Предоптимизация молекулы была выполнена методом молекулярной механики MM+ с использованием алгоритма Polak-Ribiere (сопряженного градиента). Условием завершения являлся RMS (Root Mean Square, среднеквадратичный) градиент равный 0.01 ккал/А*моль.

Оптимизация геометрии исследуемых структур проводилась полуэмпирическим методом PM3 с использованием ограниченного метода Хартри–Фока (Restricted Hartree–Fock method). Предел сходимости устанавливался как 0.01. Электронный спектр рассчитывался параметризованным методом ZINDO/S на основе оптимизированной структуры молекулы с использованием ограниченного метода Хартри–Фока. Рассчитывалась матрица конфигурационных взаимодействий CI, размерность которой выбиралась в диапазоне от (5.5) до (8.8). Для параметра OWF (Overlap Weighting Factor) принимались следующие значения: Sigma–Sigma – 1.267; Pi–Pi – 0.585.

Полученные результаты

Анализ термодинамических характеристик конформеров

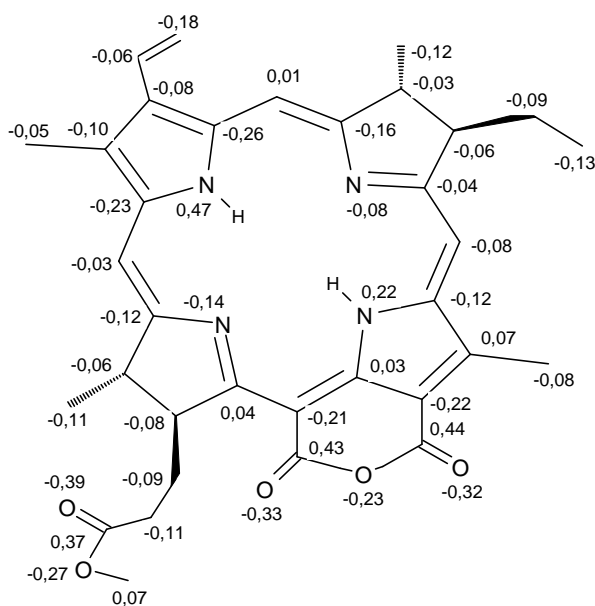
По результатам оптимизации для каждого соединения выбирались энергетически приемлемые конформеры, значения теплот образования которых не превышали 29.33 кДж/моль от теплоты образования наиболее энергетически выгодного конформера. Данные, полученные в результате расчетов, приведены в табл. 1.

Таблица 1. Максимальные и минимальные значения теплоты образования производных бактериохлорофилла *a*.

Структура	Количество конформеров	Теплота образования, ккал/моль	
		мин.	макс.
1а	81	-156.76	-149.84
1б	81	-170.13	-163.04

Распределение зарядов в ядре молекулы практически идентично, отличается оно лишь

в дополнительных циклах [13]. В соединении **2a** парциальный заряд на азоте практически равен нулю, из-за сильного смещения электронной плотности на соседний атом кислорода. Это создает напряжение и, как следствие, ведет к увеличению теплоты образования (ср. с табл.1).



Структура 2а

Рис. 2. Распределение зарядов на атомах в производных бактериохлорофилла *a* (на примере **1a** и **2a**).

Таблица 2. Параметры групп конформеров производных бактериохлорофилла *a*.

Структура	Общее количество конформеров	Количество «активных» конформеров	Теплота образования для «активных» конформеров, ккал/моль	ΔE (НСМО–ВЗМО), еВ	
				для всех конформеров	для «активных» конформеров
1а	81	40	От -156.50 до -151.26	5.57-5.77	5.63-5.77
1б	81	36	От -170.13 до -166.39	5.58-6.19	6.14-6.19
1в	243	139	От -101.35 до -97.09	5.43-6.19	6.10-6.19
2а	27	16	От -82.86 до -77.55	5.59-5.77	5.62-5.77
2г	81	25	От -78.12 до -74.09	5.59-6.15	5.81-6.15

Результаты расчетов показали, что, в зависимости от разности энергий НСМО (нижняя свободная молекулярная орбиталь) и ВЗМО (верхняя занятая молекулярная

орбиталь) (ΔE), энергетически приемлемые конформеры могут быть разбиты на 2 группы. В соответствии с теорией электромагнитного излучения, молекула поглощает квант света такой частицы, которая соответствует ΔE :

$$\Delta E_{(HClMO - B3MO)} = h \cdot \nu \quad (1)$$

$$\Delta E_{(HCMO - BMO)} = h \cdot \frac{C_0}{\lambda} \Rightarrow \lambda = h \cdot \frac{C_0}{\Delta E_{(HCMO - BMO)}} \quad (2)$$

где $h = 6.62 \cdot 10^{-34}$ (Дж·с), $C_0 = 3 \cdot 10^{10}$ (см/с), и в результате переходит в электронно-возбужденное состояние с высоким уровнем энергии. Мы предположили, что за характерный для данного соединения спектр поглощения будут отвечать конформеры с наибольшим значением ΔE (для краткости, как принято в SAR, будем называть такие конформеры «активными» [14]). В табл. 2 представлены основные характеристики как энергетически приемлемых, так и «активных» конформеров.

Для всех энергетически приемлемых структур были рассчитаны величины максимума поглощения. Различие в этих величинах для «активных» и «неактивных» конформеров составляет 20 - 25 нм. Далее значение максимума поглощения было усреднено по всем активным конформерам.

Спектры растворов соединений в хлороформе были получены с помощью спектрофотометра Jasco UV-7800 (рис. 3).

Результаты сравнения расчетных и экспериментальных значений приведены в табл. 3.

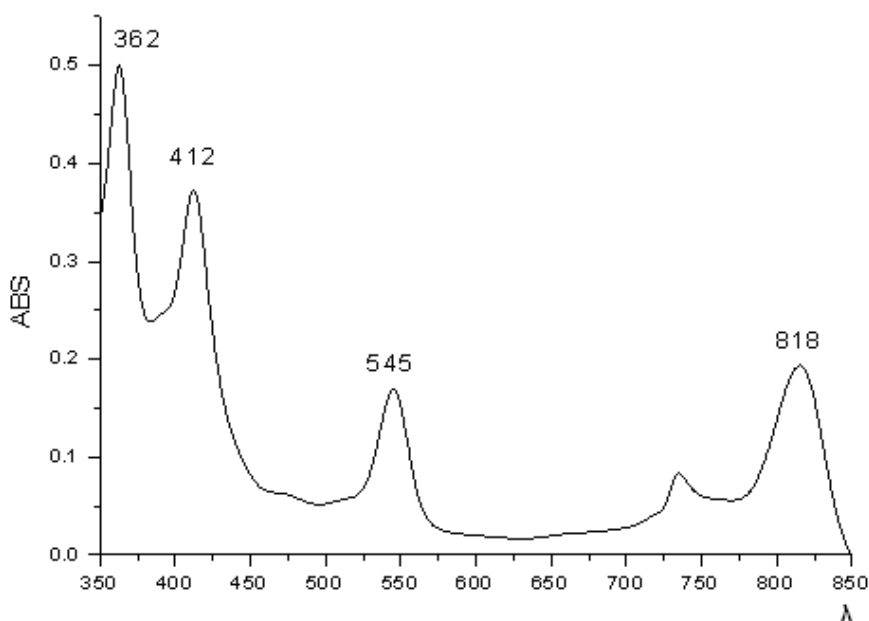


Рис. 3. Электронный спектр соединения **16** в хлороформе.

Таблица 3. Экспериментальные и расчетные значения длины волны максимумов поглощения производных бактериохлорофилла *a*.

Структура	Длина волны, нм (экспериментальная)	Длина волны, нм (расчетная)	Относительный разброс, %
1a	818	816.8	0.14
16	775	778.2	0.41
1в	783	781.8	0.15
2a	812	811.9	0.00
2г	799.5	795.3	0.53

Величина относительного разброса рассчитывалась по формуле:

$$\text{Относительный разброс} = \pm \frac{\lambda_{\text{экспер}} - \lambda_{\text{расч}}}{\lambda_{\text{экспер}}} \cdot 100\%$$

Величина среднего значения относительного разброса не превышала 0.25%.

Взаимосвязь между экспериментальными и расчетными значениями длины волны (рис. 4) носит монотонный характер – если экспериментально полученное значение длины

волны у одного соединения больше, чем у второго, то и расчетное значение у первого

соединения будет больше. Таким образом, расчетные значения длины волны можно использовать для прогнозирования спектральных свойств производных бактериохлорина с целью отбора наиболее перспективных сенсibilизаторов.

Выводы

Отбор конформеров на этапе прогнозирования длины волны максимума поглощения бактериохлоринов по критерию разности энергий НСМО и ВЗМО позволяет существенно повысить точность прогнозов, и использовать полученные данные таким для отбора наиболее перспективных фотосенсibilизаторов.

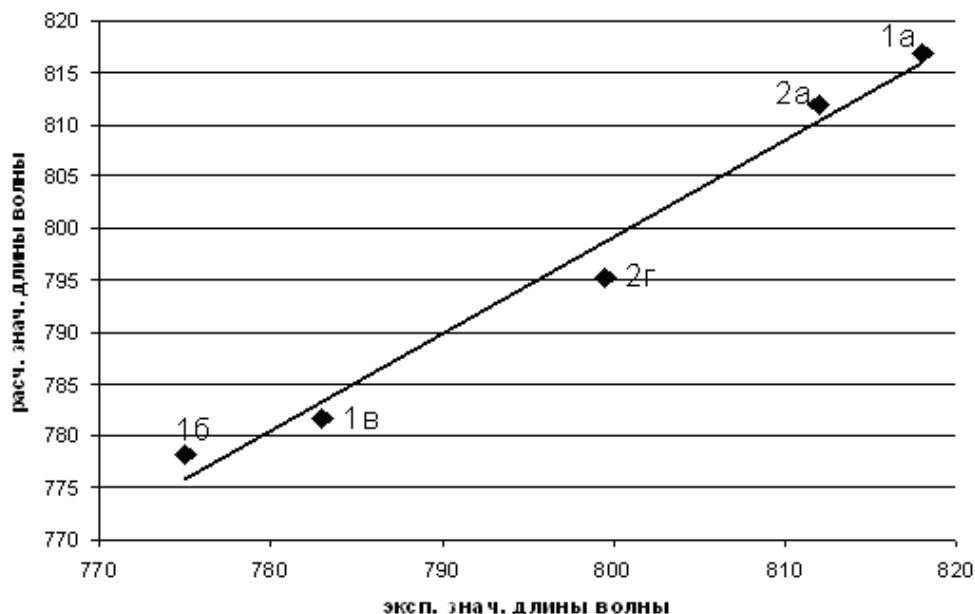


Рис. 4. Взаимосвязь экспериментальных и расчетных значений максимумов поглощения производных бактериохлорофилла *a*.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Mekenyan, O. G. Accounting for conformational flexibility of molecules in sar/qsar studies / O. G. Mekenyan, A. E. Tarkhov, V. I. Shvets // Biomed. Chem. – 1997. – Vol. 43. – № 3. – P. 127–138.
2. Synthesis of vinyl-containing analogue of bacteriochlorophyll *a* / A. F. Mironov, M. A. Grin, D. V. Dzardanov, K. V. Golovin, Y. K. Shim // Mendeleev Commun. – 2001. – № 6. – P. 205–206.
3. Synthesis and unusual spectroscopic properties of novel ketobacteriochlorins / A. N. Kozyrev, R. K. Pandey, C. J. Medforth, G. Zheng, T. I. Dougherty, K. M. Smith // Tetrahedron Lett. – 1996. – Vol. 37. – P. 747–751.
4. Bacteriochlorophyll *a* series photosensitizers with hydroxyl substitutes in the pyrrole A / A. F. Mironov, M. A. Grin, R. A. Titeev, I. S. Lonin, A. V. Feofanov, G. V. Sharonov, R. I. Yakubovskaya, T. A. Karmakova, I. G. Meerovich, G. A. Meerovich // J. Porphyrins & Phthalocyanines. – 2006. – Vol. 10. – P. 770–771.
5. Mironov, A. F. Synthesis of the first N-hydroxycycloimide in the bacteriochlorophyll *a* series / A. F. Mironov, M. A. Grin, A. G. Tsiprovskiy // J. Porphyrins & Phthalocyanines. – 2002. – Vol. 6, № 5. – P. 358–361.
6. Cycloimide bacteriochlorin *p* derivatives: photodynamic properties and cellular and tissue distribution / G. V. Sharonov, T. A. Karmakova, R. Kassies, A. D. Pljutinskaya, M. A. Grin, M. Refregiers, R. I. Yakubovskaya, A. F. Mironov, J.-C. Maurizot, P. Vigny, C. Otto, A. V. Feofanov // Free Radical Biology & Medicine. – 2006. – Vol. 40. – P. 407–419.
7. Миронов, А. Ф. Сенсibilизаторы бактериохлоринового ряда: перспективы использования в фотодинамической терапии / А. Ф. Миронов, М. А. Грин // Вестник МИТХТ. – 2006. – Т. 1, № 4. – С. 5–28.
8. Миронов, А. Ф. Разработка сенсibilизаторов второго поколения на основе природных хлорофиллов / А. Ф. Миронов // Российский хим. журнал. – 1998. – Т. 42, № 5. – С. 23–36.
9. Миронов, А. Ф. Расчеты квантовохимических параметров производных бактериохлорина с дополнительными циклами / А. Ф. Миронов, Е. В. Бурляева, А. А. Мезенцева // Сб. тез. VI Съезда фотобиологов России. – Саратов : СГУ, 2005. – С. 139.

10. Бурляева, Е. В. Использование комплексных интервальных моделей на примере прогнозирования ингибирующей активности нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы / Е. В. Бурляева, А. Е. Тархов, В. В. Бурляев // Вопросы мед. химии. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 219–230.
11. HyperChem®Computational Chemistry. – Hypercube, Inc., printed in Canada, 1996. – 356 p.
12. Кларк, Т. Компьютерная химия / Т. Кларк. – М. : Мир, 1990. – 383 с.
13. Мезенцева, А. А. Расчеты квантовохимических параметров производных хлорина с дополнительными циклами / А. А. Мезенцева, Е. В. Бурляева, А. Ф. Миронов. – Вестник МИТХТ. – 2006. – Т. 1, № 4. – С. 50–54.
14. Karelson, M. Quantum-chemical descriptors in QSAR/QSPR studies // M. Karelson, V. S. Lobanov // Chem. Rev. – 1996. – Vol. 96. – P. 1027–1043.